# 荒漠昆虫光滑鳖甲的耐寒性季节变化及其生理机制

马延龙, 候 凤, 马 纪*

(新疆大学生命科学与技术学院, 新疆生物资源基因工程重点实验室, 乌鲁木齐 830046)

**摘要**: 光滑鳖甲 *Anatolica polita borealis* 生活于温差大的新疆荒漠环境, 为探讨其耐寒性及耐寒机制, 本研究测定了其 3 - 9 月份成虫在 - 10℃ 的耐寒性、过冷却点(SCP)、含水量、甘油含量和血淋巴热滞活性(thermal hysteresis activity, THA)以及冷驯化对增强光滑鳖甲成虫耐寒性的效果, 还测定了光滑鳖甲不同发育阶段幼虫的 SCP。结果表明: 光滑鳖甲成虫的耐寒性和 SCP 具有明显的季节性变化, 3 月初 SCP 为 - 12.5℃, 7 月为 - 6℃, 9 月底为 - 13.6℃。4℃ 冷驯化能够提高光滑鳖甲成虫在 - 10℃ 的存活率, 未驯化组在 40 min 的存活率为 50%, 而驯化 2 h 的为 70%, 驯化 24 h 的为 90%。虫体含水量在夏季有显著降低, 3 月、7 月和 9 月结合水与自由水的比值分别为10.8:1, 2.6:1 和 5.4:1。成虫甘油含量与 SCP 的回归方程为 $y = -0.6204x - 5.681$, $R^2 = 0.7714$。成虫血淋巴 THA 与过冷却点的回归方程为 $y = -5.26x - 1.713$, $R^2 = 0.9049$。血淋巴 THA 比甘油浓度更能影响过冷却点降低的程度。随着幼虫的发育, 其 SCP 逐渐降低。结果提示, 光滑鳖甲通过提高结合水与自由水的比值、增加抗冻蛋白和甘油的含量使虫体保持较低的 SCP, 因而具有较高的耐寒性。

**关键词**: 光滑鳖甲; 耐寒性; 过冷却点; 热滞活性; 含水量; 生理机制

**中图分类号**: Q966 **文献标识码**: A **文章编号**: 0454-6296(2009)04-0372-08

# Seasonal changes in cold tolerance of desert beetle *Anatolica polita borealis* (Coleoptera: Tenebrionidae) and their physiological mechanisms

MA Yan-Long, HOU Feng, MA Ji* (Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering, College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

**Abstract**: *Anatolica polita borealis* lives in desert environment where the temperature difference varies greatly in the year around. In order to explore the cold tolerance of the beetle and its possible mechanisms, changes in the supercooling point (SCP), body water content, glycerol content, and thermal hysteresis activity (THA) of hemolymph of the adults from March to September were assayed, and the effect of 4℃ cold acclimation on its cold tolerance were also evaluated. The SCP of the larvae at different developmental stages were determined. The results showed that the SCP of adult *A. polita borealis* changed apparently over seasons, being - 12.5℃ in March, - 6℃ in July and - 13.6℃ in September. Cold acclimation at 4℃ for 2 h or 24 h enhanced the cold resistance of the adult beetles at - 10℃ for 40 min, and the survival rates were 70% and 90%, respectively, while it was 50% in the non-acclimated group. Body water content significantly decreased in summer compared to those in spring and autumn. The ratio of bound water to free water in March, July and September were 10.8:1, 2.6:1 and 5.4:1, respectively. The regression equation of the glycerol content and the SCP of the adult was $y = -0.6204x - 5.681$, $R^2 = 0.7714$, and that of the hemolymph THA and the SCP was $y = -5.26x - 1.713$, $R^2 = 0.9049$, showing that the hemolymph THA had more effect on the decrease of the SCP of the adult than the glycerol content did. The SCP of the larvae decreased with the larval development. The results suggest that *A. polita borealis* obtains high cold tolerance by keeping low SCP *via* increasing the ratio of bound water to free water and the amount of antifreeze protein and glycerol.

**Key words**: *Anatolica polita borealis*; cold tolerance; supercooling point; thermal hysteresis activity; water content; physiological mechanisms

---

基金项目: 国家自然科学基金项目(30760056); 新疆生物资源基因工程重点实验室开放课题(XJDX0201-200804)

作者简介: 马延龙, 男, 1982 年生, 新疆乌鲁木齐人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫分子生物学, E-mail: mayanlong0214@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: majiuci@xju.edu.cn

收稿日期 Received: 2008-11-25; 接受日期 Accepted: 2009-02-13

昆虫以多种方式抵御寒冬，在行为上可通过休眠、远距离迁徙、滞育等躲避低温伤害（Danks，2006），在生理上可通过积累抗寒物质如甘油、多元醇等以维持体内渗透压，保护细胞膜（Richard *et al*.，2006）。昆虫体内的水分状态与其抗冻能力有很大关系，有些昆虫在越冬前会降低体内含水量或提高结合水与自由水的比例（Wolfe *et al*.，2002；Block and Zettel，2003）。对松阿扁叶蜂 *Acantholyda posticalis* 和赤松毛虫 *Dendrolimus spectabilis* 幼虫的研究发现越冬前体内游离水可部分转化为结合水，降低过冷却点，避免胞内或其他重要部位遭冷害（Zachariassen，2008）。昆虫还可通过产生抗冻蛋白（antifreeze protein，AFP）而提高细胞的抗冻性（Barrett，2001）。抗冻蛋白可降低溶液的冰点而不影响其熔点，由此产生抗冻蛋白特有的热滞活性（thermal hysteresis activity，THA）。目前在已检测的 75 种昆虫血淋巴中，发现 18 种具有热滞活性（Duman *et al*.，2004）。昆虫耐寒性研究中常选择过冷却点（supercooling point，SCP）作为衡量其耐寒性强弱的一个重要指标（Slabber and Chown，2004）。同时，利用低温存活率实验的半致死时间可最终确定耐寒性强弱（景晓红和康乐，2004）。昆虫在经历严酷低温前给予一定时间的快速冷驯化能够极大地提高耐寒性（Koveos，2001；Pedersen *et al*.，2006）。虽然这种快速冷驯化不能保证昆虫在长时间低温下的存活，但至少可以使昆虫适应昼夜的温差变化和短时间的冷胁迫。

光滑鳖甲 *Anatolica polita borealis* 属于拟步甲科（Tenebrionidae）鳖甲族（Tentyriini）鳖甲属 *Anatolica* 昆虫（黄人鑫等，2005）。生活在新疆准噶尔盆地古尔班通古特沙漠南缘的荒漠地区，这里气温变化范围大，年温差和昼夜温差大，夏季地表温度可达 50℃以上，冬季极端最低气温 –40℃以下，年均气温 6 ~ 10℃（任珺和陶玲，2005）。成虫生活在地表，主要啃食荒漠植物的茎和叶，其幼虫生活在地面下主要以荒漠植物的根、种子为食，对荒漠植物造成较大危害。冬季主要以成虫越冬，早春季节偶尔也可发现老熟幼虫，春季复苏后立即交配产卵，因此高耐寒性成为其越冬和次年种群繁衍的重要保障。目前对荒漠昆虫耐寒性的研究还十分有限，光滑鳖甲如何适应荒漠温度的急剧变化、体内含水量及抗冻保护物质有怎样的变化规律、是否可进行快速冷驯化等问题都有待于研究。本文对光滑鳖甲体内生化物质的季节性变化以及各发育阶段幼虫的 SCP 进行了初步研究，以期对荒漠昆虫的耐寒性有较全面的了解，为荒漠害虫的预测预报和综合治理提供科学依据。

## 1　材料与方法

### 1.1　试虫

光滑鳖甲成虫采于新疆五家渠市 103 团古尔班通古特沙漠边缘地带，采集时间为早春 3 月初（3 月 2 日）积雪开始融化时至 9 月底光滑鳖甲进入越冬期。10 月至来年 2 月未找到光滑鳖甲的越冬场所，因而未获得样本。野外新鲜采集的样本直接进行耐寒性和生理测定。对 4 月份采集的成虫部分进行室内饲养，饲料为麦麸和新鲜蔬菜。每日筛沙收集虫卵，在温箱中（28 ± 2℃，RH 70% ± 5% 和光周期 12D∶12L）培养，观察收集不同发育阶段的幼虫。

### 1.2　耐寒性测定

**1.2.1**　光滑鳖甲成虫 SCP 测定：根据秦玉川和杨建才（2000）方法并略加改进。取 1.5 mL 的离心管作测温管，底部垫适量棉花，放入一头待测活虫，将温度计（WNY-150A 数字测温仪，精度 0.1℃）探头与虫体接触，然后用棉花小心固定，确保探头不损伤虫体。将测温管放入 –50℃ 低温冰箱测定 SCP。每月新鲜采集的成虫随机选取 20 头进行测定。计算平均值和标准差。

**1.2.2**　幼虫 SCP 的测定：将单头幼虫放入测温管中，用棉花小心固定测温探头，将测温管放入 –50℃低温冰箱测定 SCP。计算平均值和标准差。

**1.2.3**　低温暴露实验：以 2007 年样地的冬季平均气温 –17℃和平均地面温度 –10℃分别进行春季光滑鳖甲成虫的耐寒性预实验，30 min 之后 –17℃处理的昆虫几乎全部死亡，–10℃处理的昆虫全部存活，考虑到要测定一年中不同季节的昆虫耐寒性，温度不宜太低，因此选用 –10℃作为低温暴露实验温度。取各月份采集的成虫 160 头，分 8 组每组 20 头，置于 –10℃冰箱，每隔 20 min 取出一组计算其存活率。以室温恢复 0.5 h 后能活动为存活标准。在实验过程中保持虫体表面干燥，避免体表水分在低温实验箱中结冰，并透过体表产生冰核接种效应而影响实验效果。

**1.2.4**　冷驯化对光滑鳖甲耐寒性的影响：根据文献（Li *et al*.，2001；Wang *et al*.，2003），以 4℃作为冷驯化温度。取 7 月份采集的成虫 480 头，分 3 组进行不同处理：无冷驯化（作为对照），4℃冷驯化 2 h 和 4℃ 冷驯化 24 h。然后将各组试虫置于

-10℃，每隔 20 min 取出 20 头，分别计算存活率。

**1.2.5** 含水量测定：取成虫 20 头，-20℃处死后，分别称量体重 $m_1$，然后置于干燥器内，室温放置 48 h 称量体重 $m_2$，再将虫体移入 100℃烘箱中烘干 10 h，称量 $m_3$。$(m_1 - m_3)/m_1$ 为总含水量，$(m_1 - m_2)/m_1$ 相对自由水含量，总含水量与自由水含量之差为结合水含量。

**1.2.6** 甘油含量测定：虫体甘油含量参照陈永杰等(2005)的方法测定。

**1.2.7** 血淋巴 THA 测定：离心法采集血淋巴液。取各月份采集的光滑鳖甲成虫 10 头，将去头后的虫体倒放在离心管里，4℃ 10 000 r/min 离心5 min，将上清转移至另一离心管，在采集的血淋巴液中加入终浓度 5 mmol/L 苯基硫脲防止黑化，-50℃保存备用。测定 THA 时，取 50 μL 血淋巴于 70℃水浴 10 min，4℃ 10 000 r/min 离心 10 min，上清取 20 μL。采用 Mico-Osmometer (Fiske® Model210, USA)测定，根据仪器说明书的计算方法(1℃ = $1.86 \times 10^{-3}$ mOsm)将渗透浓度(mOsm)转化为 THA(℃)。

### 1.3 统计分析

采用医学生物统计学软件 Prism4.0 对实验数据进行统计分析，不同月份和不同发育阶段 SCP 差异分析使用 One-way ANOVA/Tukey 法。

## 2 结果

### 2.1 季节性温度波动对光滑鳖甲成虫耐寒性的影响

2008 年 3-9 月连续对光滑鳖甲成虫 SCP 进行测定，结果表明光滑鳖甲 SCP 具有明显的季节性变化($F = 111.5$, $df = 6$, $P < 0.000 1$)(图 1、2)。3 月份 SCP 为 -12.5℃，7 月份升高到 -6℃，9 月份光滑鳖甲开始进入休眠期，SCP 为 -13.6℃。光滑鳖甲的 SCP 与平均气温的季节性变化具有显著相关性，相关系数为 0.84($P < 0.05$)。

对各月份采集的光滑鳖甲成虫进行 -10℃低温耐寒性实验，结果表明其耐寒能力表现为两组不同情况。一组是耐寒能力强的春季和秋季组，另一组是耐寒能力较弱的夏季组(图 2)。3 月初的昆虫在实验的 160 min 内可保持 80% 的存活率，未测得半致死时间。但 3 月初所测定的死亡率随着在 -10℃暴露时间的延长而出现波动，可能是由个体差异造成。8 月底至 9 月光滑鳖甲就开始进入休眠期，其半致死时间为 120 min，而 5-7 月的半致死时间为 40 min 左右。

### 2.2 冷驯化对光滑鳖甲成虫耐寒性的影响

光滑鳖甲在 4℃冷驯化 2 h 和 24 h 后，在 -10℃低温的存活率显著提高，无冷驯化的半致死时间为 40 min，冷驯化 2 h 后半致死时间延长到 80 min，冷驯化 24 h 后延长到 100 min(图 3)。2 h 短时间冷驯化对提高光滑鳖甲耐寒性的效果好于 24 h 冷驯化，从图 4 可以看出光滑鳖甲在 -10℃暴露 100 min 后的存活率 24 h 冷驯化的低于 2 h 冷驯化的，这可能与持续低温预冷导致的寒害(chilling injury)有关。

### 2.3 光滑鳖甲成虫含水量的季节性变化

如图 4 所示，从 3 月到 9 月光滑鳖甲的总含水量在夏季比春秋季极显著降低($P < 0.001$)，结合水含量也具有相同的变化趋势，夏季高而春秋季低，但自由水含量的变化趋势与之相反。3 月份结合水

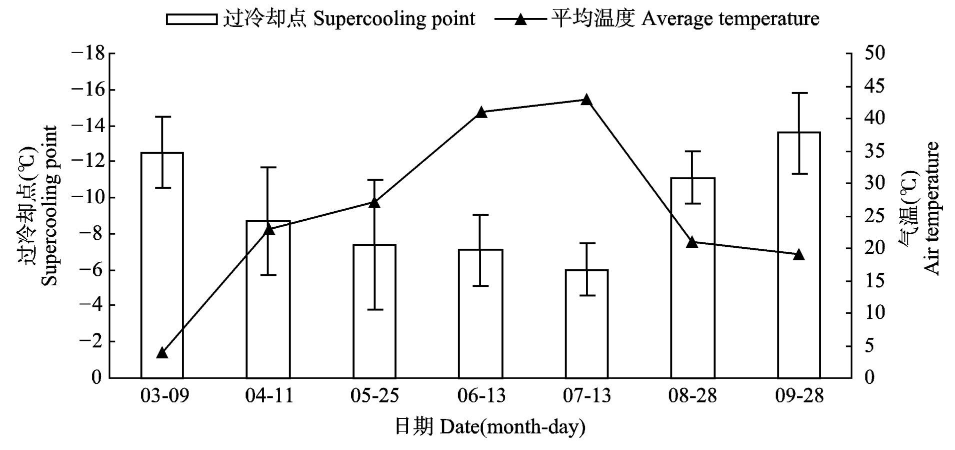



图 1 不同月份光滑鳖甲成虫的过冷却点

Fig. 1 Supercooling point of *Anatolica polita borealis* adult in different months

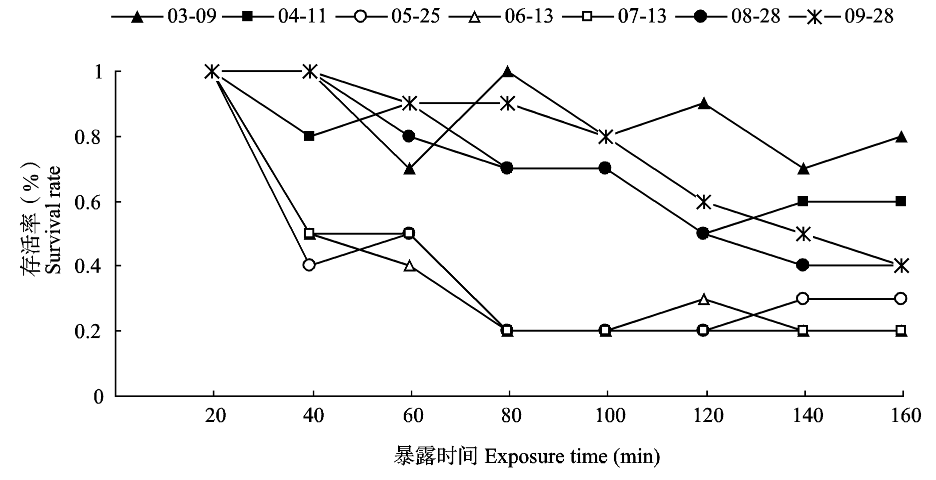



图 2　不同月份的光滑鳖甲成虫暴露在 -10℃ 下的存活率

Fig. 2　Survival rate of *Anatolica polita borealis* adult exposed to -10℃ in different months

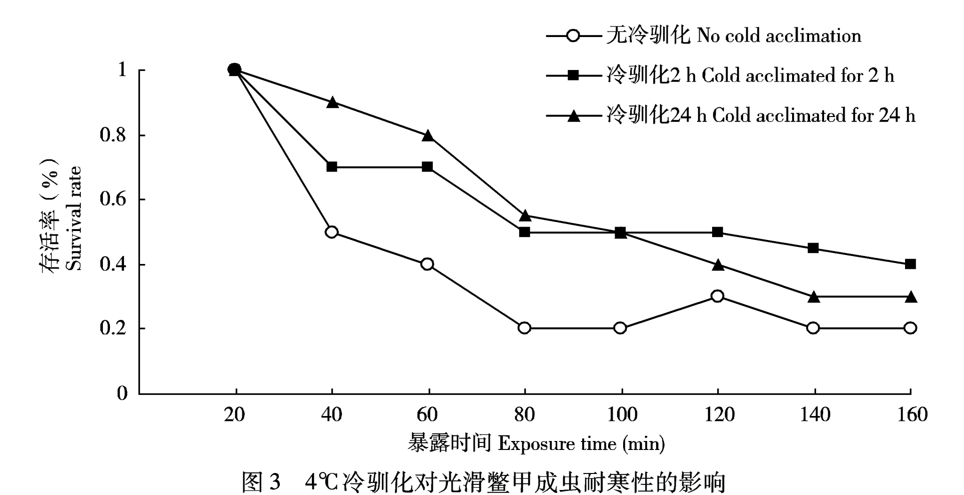



图 3　4℃冷驯化对光滑鳖甲成虫耐寒性的影响

Fig. 3　Effect of cold acclimation at 4℃ on cold tolerance of *Anatolica polita boreali* adult

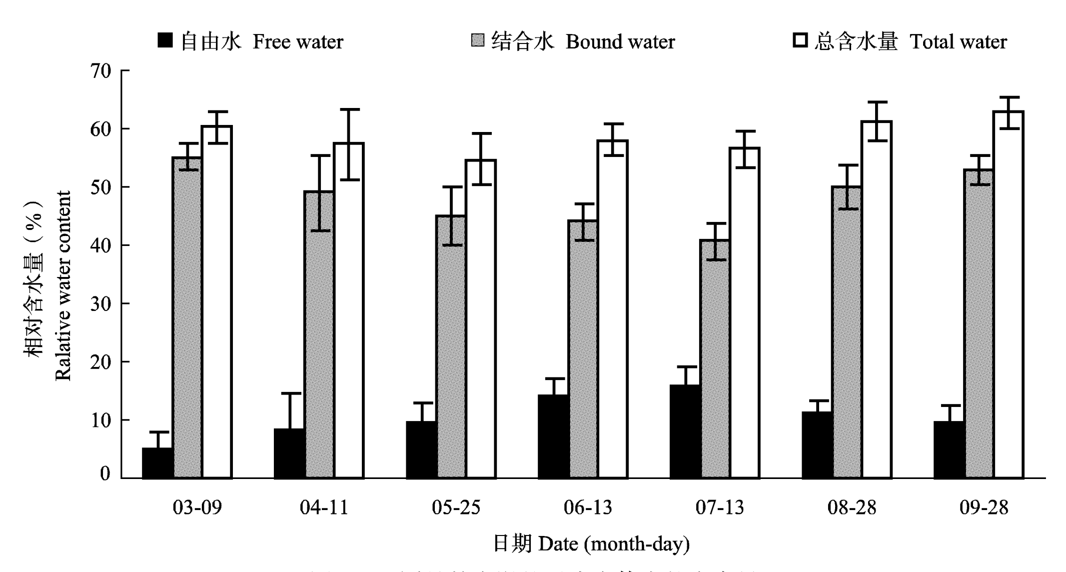



图 4　不同月份光滑鳖甲成虫体内的含水量

Fig. 4　Water content in *Anatolica polita boreali* adult in different months

占总含水量的91.5%，7月份下降至72.1%，进入秋季的9月又提高到84.4%。自由水含量最低值出现在抗寒能力最强的3月，占总含水量的8.5%，最高值出现在抗寒能力最低的7月，占总含水量的27.9%，9月份自由水含量降低为总含水量的15.6%。结合水与自由水的比值在不同季节也发生了显著变化,其比值在初春3月、夏季7月和秋季的9月分别为10.8:1，2.6:1和5.4:1。说明低温影响光滑鳖甲体内水分状况及总水含量。将虫体结合水含量($y$)与同期SCP($x$)进行相关性分析，得回归方程为 $y = -1.6688x + 32.299$ ($R^2 = 0.944$, $P < 0.05$)，结合水含量与SCP高度负相关，说明光滑鳖甲在低温条件下通过增加结合水含量来降低体液SCP，提高自身过冷却能力。

### 2.4 光滑鳖甲成虫甘油含量的变化

制作测定甘油含量的标准曲线，得到回归方程 $y = 18.151x + 0.7557$ ($R^2 = 0.9853$)，根据光吸收值 $OD_{630}$ 计算甘油含量，结果见图5。越冬前虫体甘油含量迅速增加，由7月份的2.33 mg/mL增加到9月份的14.55 mg/mL。越冬后，随着气温升高虫体甘油含量明显下降，3月份降为6.68 mg/mL。将光滑鳖甲甘油含量($y$)与SCP($x$)进行相关性分析，相关系数 $R = -0.8805$，回归方程为 $y = -0.62x - 5.68$，相关指数 $R^2 = 0.7714$ ($P < 0.01$)，可见光滑鳖甲体内甘油含量与其对应的SCP呈负相关，甘油浓度每增加1 mg/mL，虫体的SCP降低0.62℃，表明该虫可通过启动体内甘油合成与代谢来调控其耐寒性以应对低温胁迫。

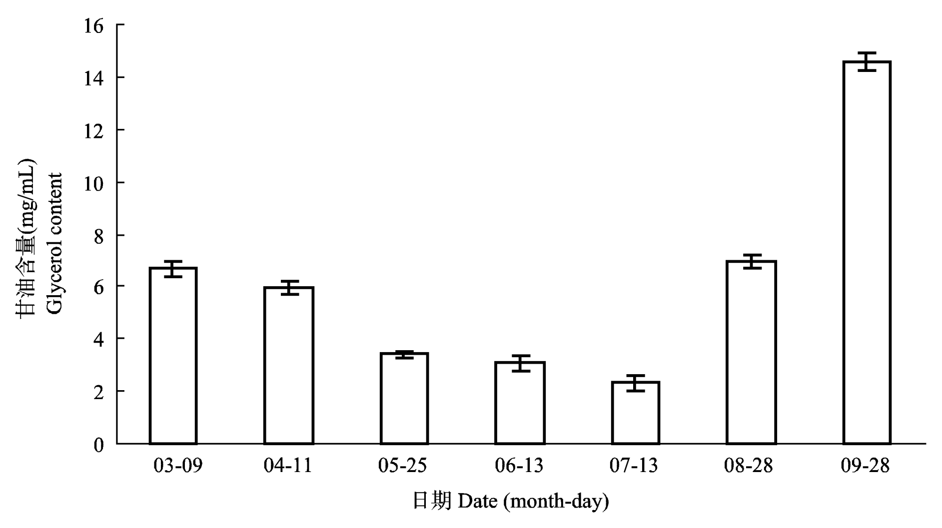



图5 不同月份光滑鳖甲成虫体内的甘油含量

Fig. 5 Glycerol content in *Anatolica polita boreali* adult in different months

### 2.5 光滑鳖甲成虫血淋巴液THA的变化

光滑鳖甲成虫血淋巴THA的变化趋势为初春和入冬时THA较高，夏季较低，3月和9月THA达到2.1℃，而6月和7月为0.85℃左右。各月份间的THA差异显著($P < 0.01$)，夏季与越冬前后差异极显著($P < 0.001$)(表1)。THA的季节性变化与虫体SCP的变化趋势一致，相关系数 $R$ 为 $-0.9513$，回归方程为 $y = -5.26x - 1.71$，相关系数 $R^2 = 0.9049$ ($P < 0.001$)，表明血淋巴的热滞活性每增加1℃，虫体的SCP降低5.26℃。

### 2.6 光滑鳖甲幼期的SCP

对光滑鳖甲幼虫的SCP测定结果表明，1龄幼虫的SCP最高(−9.5℃)，6龄最低(−15.7℃)，两者的差异极显著($P < 0.001$)(表2)。总体趋势表现为随着虫龄的增加，SCP逐渐降低，表明抗寒性逐渐增强。

## 3 讨论

本文通过对光滑鳖甲非越冬期耐寒性研究发现，光滑鳖甲成虫在−10℃的耐寒性具有明显的季节性变化，表现为越冬前的9月底和越冬后的3月初耐寒性较强，夏季的耐寒性最低。这一结果符合光滑鳖甲生活环境的季节性温度变化，是耐寒适应性的表现，其SCP与气温的相关系数为0.84。为了研究光滑鳖甲对荒漠温度迅速变化的适应性，测定了在有无低温驯化条件下其耐寒性的差异，结果表明4℃冷驯化2 h和24 h都能显著增强其耐寒性，

表 1　光滑鳖甲成虫血淋巴的热滞活性（THA）和虫体过冷却点的季节性变化

Table 1　Hemolymph THA and SCP of *Anatolica polita boreali* adult in different months

| 日期（月-日）Date (month-day) | 过冷却点 SCP(℃) | 渗透浓度 Osmolality (mOsm) | 热滞活性 THA (℃) |
|---|---|---|---|
| 03-09 | −12.5 ±2.0 de | 1 175 | 2.186 |
| 04-11 | −8.7 ±3.0 ba | 798 | 1.484 |
| 05-25 | −7.4 ±3.6 a | 677 | 1.259 |
| 06-13 | −7.1 ±2.0 a | 448 | 0.833 |
| 07-13 | −6.0 ±1.5 a | 476 | 0.885 |
| 08-28 | −11.1 ±1.4 bc | 879 | 1.634 |
| 09-28 | −13.6 ±2.2 e | 1 109 | 2.062 |

表中渗透浓度和热滞活性是 10 头成虫血淋巴混合液的测定值，过冷却点数据为平均值 ± 标准差，相同字母表示差异不显著（单因素方差分析/Tukey 多重比较，$P>0.05$）。Data of osmolality and THA are values of pooled hemolymph of 10 adult insects. Values of SCP are means ± *SD*. The same letters indicate no significant difference by one-way ANOVA/Tukey test ($P>0.05$).

表 2　光滑鳖甲幼虫的过冷却点

Table 2　Supercooling point in *Anatolica polita boreali* larva

| 幼虫龄期 Instars | 检测幼虫数 Number of measured larva | 过冷却点 SCP(℃) |
|---|---|---|
| 1 龄 1st instar | 40 | −9.5 ±1.9 (−6.5 − −13.6) a |
| 2 龄 2nd instar | 40 | −9.7 ±2.0 (−6.5 − −13.8) a |
| 3 龄 3rd instar | 30 | −10.4 ±2.0 (−7.5 − −14.8) ab |
| 4 龄 4th instar | 20 | −12.5 ±1.9 (−9.9 − −15.7) b |
| 5 龄 5th instar | 15 | −14.6 ±1.2 (−13.2 − −16.1) bc |
| 6 龄 6th instar | 8 | −15.7 ±1.1 (−14.7 − −17.1) c |

表中数据为平均值 ± 标准差，相同字母表示差异不显著（单因素方差分析/Tukey 多重比较，$P>0.05$）。Values are means ± *SD*. The same letters indicate no significant difference by one-way ANOVA/Tukey test ($P>0.05$).

提示光滑鳖甲成虫存在快速冷驯化机制。这可能是其适应昼夜温差波动较大的荒漠生境的结果。这种现象在其他昆虫也有报道（Li *et al*., 2001）。光滑鳖甲成虫的冷驯化在一定范围内有效，当 4℃ 驯化 24 h再接受长时间 −10℃冷冻时，耐寒性反而会降低，这可能与持续低温引起细胞膜的损伤有关（Melody *et al*., 2008）。与其他昆虫相比，光滑鳖甲显示出更强的耐寒性，不同季节的成虫在 4℃ 下放置 14 d 都没有观察到任何死亡。在 −10℃下冷冻 20 min 也没有观察到死亡个体。桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis* 越冬成虫在5℃下暴露2 d 的校正死亡率为 20.11%，−5℃低温暴露下 0.5 h 时，校正死亡率达到 70% 左右，在 10℃冷驯化 0.5 d 才能显著提高在 0℃下的存活率（任璐等，2007）。

光滑鳖甲成虫在不同季节的总含水量基本稳定，夏季略有降低。准备越冬过程中，结合水含量升高，自由水含量降低。结合水含量与 SCP 高度相关，表明光滑鳖甲通过提高结合水的比例降低 SCP。在其他昆虫中也观察到在面临低温时昆虫可将自由水转化为结合水（Wolfe *et al*., 2002；强承魁等，2008）。昆虫通过产生甘油等渗透保护物质，可提高耐寒性。水稻二化螟越冬幼虫甘油含量增加，SCP 降低（Yohei *et al*., 2006）。对光滑鳖甲成虫体内甘油含量的测定表明 SCP 点随甘油含量的增加而逐渐降低，甘油浓度每增加 1 mg/mL，SCP 降低 0.62℃。这说明光滑鳖甲在准备越冬期间积累甘油作为体内的抗寒物质。光滑鳖甲成虫血淋巴 THA 的测定表明其夏季与越冬前后的 THA 有极显著差异（$P<0.001$）。THA 与虫体 SCP 的相关指数 $R^2$ 为 0.9051，表明 THA 对 SCP 降低的线性影响程度很大，血淋巴 THA 每增加 1℃，虫体的 SCP 降低 5.26℃，两者的相关程度远高于甘油含量对 SCP 的影响（$R^2$ 为 0.7714）。光滑鳖甲成虫越冬前 SCP 的降低可能是抗冻蛋白与甘油等小分子物质共同作用的结果，由于抗冻蛋白以非依数性（non-colligative）形式降低体液的冰点，其降低程度远远大于相同摩尔浓度渗透性物质对冰点的降低（Barrett，2001），因此抗冻蛋白对提高光滑鳖甲的抗冻性可能起主要作用。此外，一些小分子物质包括甘油还可以提高抗冻蛋白的活性（Duman，2002），本研究发现甘油含量的变化与血淋巴 THA 变化一致，提示甘油除了渗透性降低 SCP 之外，可能也有助于提高抗冻蛋白的 THA。光滑鳖甲还能以幼虫形态越冬，其幼虫 SCP 随着发育龄期的增加而逐渐降低，这有利于幼虫过冬。黄粉虫 *Tenebrio molitor* 和赤翅甲 *Dendroides canadensis* 的幼虫体内都有大量抗冻蛋白（Andorfer and Duman，2000；Qin *et al*., 2006），光滑鳖甲幼虫是否也可通过产生抗冻蛋白而增强耐寒性有待于研究。

野外观察发现，在新疆准噶尔盆地荒漠中，光滑鳖甲属于出蛰最早的昆虫之一，3 月初积雪尚未融化时就可在地面采集到。而在秋季光滑鳖甲又是进入越冬期最早的种类之一，9 月底当其他昆虫尚

在活动时，就很难采到光滑鳖甲了。由于尚不清楚其越冬场所，在野外未采到越冬的光滑鳖甲，这对全面了解其耐寒性有一定影响。有文献报道，春秋季处于越冬和非越冬转换期的活动昆虫可能比越冬期的昆虫所面临的低温胁迫更严酷，其耐寒性表现为体内抗冻保护物质的更大增加（Baust and Lee，1981；Jason *et al*.，2008），其中以抗冻蛋白的表达量在温度波动较大的春秋季可达到最高值（Meier and Zettel，1997）。对光滑鳖甲成虫 SCP 与平均气温的相关性分析表明，两者呈显著正相关，相关系数为 0.84，由此可以推测冬季随着气温的降低，虫体的 SCP 可能还会降低。对血淋巴 THA 和甘油含量的测定都表现出与季节性温度变化的显著相关性，推测其耐寒性在冬季可能会进一步提高。

## 参 考 文 献（References）


Andorfer CA，Duman JG，2000. Isolation and characterization of cDNA clones encoding antifreeze proteins of the pyrochroid beetle *Dendroides canadensis*. *J. Insect Physiol*.，46：365－372.

Barrett J，2001. Thermal hysteresis proteins. *Int. J. Biochem. Cell Biol*.，33(2)：105－117.

Baust JG，Lee RE，1981. Divergent mechanisms of frost hardiness in two populations of the gall fly，*Eurosta solidaginsis*. *J. Insect Physiol*.，27：485－490.

Block W，Zettel J，2003. Activity and dormancy in relation to body water and cold tolerance in a winter-active springtail. *Eur. J. Entomol*.，100：305－312.

Chen YJ，Sun XG，Zhang WG，Mou ZG，Guo GZ，2005. Relation between variation of water，fat，glycerol *in vivo* of over-wintering *Diaphania pyloalis* Walker larvae and cold-hardiness. *Sci. Sericul*.，31(1)：22－25.［陈永杰，孙绪艮，张卫光，牟志刚，郭光智，2005. 桑螟越冬幼虫体内水分、脂肪、甘油的变化与抗寒性的关系. 蚕业科学，31(1)：22－25］

Danks HV，2006. Insect adaptations to cold and changing environments. *Can. Entomol*.，138：1－23.

Duman JG，2002. The inhibition of ice nucleators by insect antifreeze proteins is enhanced by glycerol and citrate. *J. Comp. Physiol. B*，172：163－168.

Duman JG，Bennett V，Sformo T，Hochstrasser R，Barnes BM，2004. Antifreeze proteins in Alaskan insects and spiders. *J. Insect Physiol*.，50：259－266.

Huang RX，Wu W，Mao XF，Hu HY，Fan ZT，Hou YJ，Li XP，Du CH，Shao HG，Huang X，Ouyang T，2005. The Fauna of the Desert Insects of Xinjiang and Its Formation and Evolution. Xinjiang Science and Technology Press，Urumqi. 36－39.［黄人鑫，吴卫，毛新芳，胡红英，范兆田，侯彦君，李新平，杜春华，邵红光，黄翔，欧阳彤，2005. 新疆荒漠昆虫区系及其形成与演变. 乌鲁木齐：新疆科学技术出版社. 36－39］

Jason B，Williams RE，Lee J，2008. Differences in cold tolerance，desiccation resistance，and cryoprotectant production between three populations of *Eurosta solidaginis* collected from different latitudes. *J. Comp. Physiol. B*，178：365－375.

Jing XH，Kang L，2004. Overview and evaluation of research methodology for insect cold hardiness. *Entomol. Knowl*.，41：7－10.［景晓红，康乐，2004. 昆虫耐寒性的测定与评价方法. 昆虫知识，41：7－10］

Koveos DS，2001. Rapid cold hardening in the olive fruit fly *Bactrocera oleae* under laboratory and field conditions. *Entomol. Exp. Appl*.，101：257－263.

Li YP，Gong H，Park H，Goto M，2001. Rapid cold hardening providing higher cold tolerance than cold acclimation in the pine needle gall midge *Thecodiplosis japonensis* larvae. *Entomol. Sinica*，8(1)：81－88.

Meier P，Zettel J，1997. Cold hardiness in *Entomobrya nivalis* (Collembola，Entomobryidae)：Annual cycle of polyols and antifreeze proteins，and antifreeze triggering by temperature and photoperiod. *J. Comp. Physiol. B*，167：297－304.

Melody S，Clark M，Roger W，2008. How insects survive the cold：Molecular mechanisms－a review. *J. Comp. Physiol. B*，178：917－933.

Pedersen SA，Kristiansen E，Andersen RA，Zachariassen KE，2006. Cold hardiness in relation to trace metal stress in the freeze-avoiding beetle *Tenebrio molitor*. *J. Insect Physiol*.，52：846－853.

Qiang CK，Du YZ，Yu LY，2008. Dynamic changes of cold-resistant substances of overwintering *Chilo suppressalis* (Walker) larvae. *Chin. J. Appl. Ecol*.，19(3)：599－605.［强承魁，杜予州，于玲雅，2008. 水稻二化螟越冬幼虫耐寒性物质的动态变化. 应用生态学报，19(3)：599－605］

Qin WS，Walker VK，2006. *Tenebrio molitor* antifreeze protein gene identification and regulation. *Gene*，367：142－149.

Qing YC，Yang JC，2000. A new simple method to test insect supercooling point. *Entomol. Knowl*.，47(4)：236－238.［秦玉川，杨建才，2000. 一种便携式测定昆虫过冷却点的方法. 昆虫知识，47(4)：236－238］

Ren J，Tao L，2005. Multivariate characterization of vegetation in Junnger Basin. *Acta Agrsetia Sinica*，13(2)：134－139.［任珺，陶玲，2005. 准噶尔盆地沙漠植被多元特征分析. 草地学报，13(2)：134－139］

Ren L，Lu YY，Zeng L，2007. Cold hardiness of pupae and overwintering adults from natural populations of *Bactrocera dorsalis*. *Acta Entomol. Sin*.，50(6)：588－596.［任璐，陆永跃，曾玲，2007. 桔小实蝇自然种群蛹和越冬成虫的耐寒性. 昆虫学报，50(6)：588－596］

Richard LJ，Krishnan D，Shu XY，Gary AL，2006. Rapid cold-hardening increases membrane fluidity and cold tolerance of insect cells. *Cryobiol*.，52：459－463.

Slabber SS，Chown L，2004. Thermal tolerance and cold hardiness strategy of the sub-Antarctic psocid *Antarctopsocus jeanneli* Badonnel. *Polar Biol*.，28：56－61.

Wang XH，Qi XL，Kang L，2003. Rapid cold hardening process of insects and its ecologically adaptive significance. *Prog. Nat. Sci*.，

13(9): 641-647.

Wolfe J, Bryant G, Koster KL, 2002. What is 'unfreezable water', how unfreezable is it and how much is there? *CryoLetters*, 23: 157-166.

Yohei I, Shoji S, Hideya Y, 2006. Role of membrane transport of water and glycerol in the freeze tolerance of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Insect Physiol.*, 52: 215-220.

Zachariassen KE, 2008. Is the strategy for cold hardiness in insects determined by their water balance? A study on two closely related families of beetles: Cerambycidae and Chrysomelidae. *J. Comp. Physiol. B*, 178(8): 977-984.

（责任编辑：袁德成）